

Е.В. Шейда, ✉
В.А. Рязанов,
Г.К. Дускаев,
Ш.Г. Рахматуллин,
О.В. Кван

Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН,
Оренбург, Россия

✉ elena-shejda@mail.ru

Поступила в редакцию:
20.04.2023

Одобрена после рецензирования:
04.05.2023

Принята к публикации:
20.05.2023

Elena V. Sheida, ✉
Vitaly A. Ryazanov,
Galimzhan K. Duskaev,
Shamil G. Rakhmatullin,
Olga V. Kvan

Federal Scientific Center of Biological
Systems and Agrotechnologies of the
Russian Academy of Sciences, Orenburg,
Russia

✉ elena-shejda@mail.ru

Received by the editorial office:
20.04.2023

Accepted in revised:
04.05.2023

Accepted for publication:
20.05.2023

Влияние добавок растительных масел на микробиоту рубца жвачных и течение обменных процессов в рубце в *in vitro* исследованиях

РЕЗЮМЕ

Актуальность. В исследовании с использованием метода *in vitro* изучались изменения таксономического рубца и течение процессов ферментации в ответ на добавление различных липидных добавок в рацион жвачных животных.

Методы. Были сформированы три образца: контроль — без добавления масла, опытные дополнялись подсолнечным маслом (3%) (I) и соевым (3%) (II). Объектом исследования является рубцовое содержимое, полученное от бычков казахской белоголовой породы с хронической фистулой рубца ($n = 3$) методом латинского квадрата. Исследования переваримости СВ проводили с помощью инкубатора ANKOM Daisyll по специализированной методике. Лабораторные исследования: уровень летучих жирных кислот (ЛЖК) в содержимом рубца определяли методом газовой хроматографии на хроматографе газовом «Кристаллюкс-4000М», определение форм азота — по ГОСТ 26180-84. Микробное биоразнообразие содержимого рубца проводили с помощью MiSeq (Illumina, США) методом секвенирования нового поколения (NGS) с набором реагентов MiSeq® Reagent Kit v3 (600 cycle).

Результаты. Добавление масел оказывало стимулирующее влияние на переваримость СВ корма в рубце, увеличивая данный показатель на 2,7%. По сравнению с контролем добавление масла уменьшало концентрацию общего и белкового азота в рубцовом содержимом, содержание небелкового азота при этом увеличивалось (на 5,4%) при использовании подсолнечного и (на 7,8%) соевого масла. Дополнительное включение масел показало повышение уровня уксусной и масляной кислот, соответственно: в группе с использованием подсолнечного масла — на 46,8% и 55,6%, в группе с соевым маслом — на 51,5% и 60,5% относительно контроля. Дополнительное включение подсолнечного масла в рацион показало изменение численности микроорганизмов в РЖ, но качественный состав микробиоты относительно контрольной группы изменялся незначительно.

Ключевые слова: азот, летучие жирные кислоты, микробиом, рубец, крупный рогатый скот, липиды

Для цитирования: Шейда Е.В., Рязанов В.А., Дускаев Г.К., Рахматуллин Ш.Г., Кван О.В. Влияние различных добавок на микробиоту рубца жвачных и течение обменных процессов в рубце в *in vitro* исследованиях. *Аграрная наука*. 2023; 371(6): 58–64, <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-371-6-58-64>

© Шейда Е.В., Рязанов В.А., Дускаев Г.К., Рахматуллин Ш.Г., Кван О.В.

The effect of various additives on the microbiota of ruminant rumen and the course of metabolic processes in the rumen *in vitro* studies

ABSTRACT

Relevance. In an *in vitro* study, changes in the taxonomic scar and the course of fermentation processes in response to the addition of various lipid additives to the ruminant diet were studied.

Methods. Three samples were formed: control — without the addition of oil, the experimental ones were supplemented with sunflower oil (3%) (I) and soy (3%) (II). The object of the study is the scar content obtained from Kazakh white-headed bulls with chronic scar fistula ($n = 3$) by the Latin square method. Studies of the digestibility of SV were carried out using the incubator «ANKOM Daisyll» according to a specialized technique. Laboratory studies: the level of volatile fatty acids (VFA) in the contents of the scar was determined by gas chromatography on a gas chromatograph «Crystallux-4000M», determination of nitrogen forms according — to GOST 26180-84. Microbial biodiversity of the rumen contents was carried out using MiSeq («Illumina», USA) by the new generation sequencing method (NGS) with a set of reagents MiSeq® Reagent Kit v3 (600 cycle).

Results. The addition of oils had a stimulating effect on the digestibility of SV feed in the rumen, increasing this indicator by 2.7%. Compared with the control, the addition of oil reduced the concentration of total and protein nitrogen in the scar content, while the content of non-protein nitrogen increased (by 5.4%) when using sunflower and (by 7.8%) soybean oil. The additional inclusion of oils showed an increase in the level of acetic and butyric acids, respectively: in the group using sunflower oil — by 46.8% and 55.6%, in the group with soybean oil — by 51.5% and 60.5% relative to the control. The additional inclusion of sunflower oil in the diet showed a change in the number of microorganisms in the RYE, but the qualitative composition of the microbiota relative to the control group did not change significantly.

Key words: nitrogen, volatile fatty acids, microbiome, rumen, cattle, lipids

For citation: Sheida E.V., Ryazanov V.A., Duskaev G.K., Rakhmatullin Sh.G., Kvan O.V. The effect of various additives on the microbiota of ruminant rumen and the course of metabolic processes in the rumen *in vitro* studies. *Agrarian science*. 2023; 371(6): 58–64 (In Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-371-6-58-64>

© Sheida E.V., Ryazanov V.A., Duskaev G.K., Rakhmatullin Sh.G., Kvan O.V.

Введение / Introduction

Одним из глобальных воздействий животноводства на окружающую среду является выброс в атмосферу метана. Метан вырабатывается в рубце археями, и эти микробы часто обнаруживаются в тесной связи с видами бактерий и простейших, которые продуцируют CH_4 [1]. Однако, помимо воздействия на выбросы метана или количество метаногенных микробов, существует необходимость продемонстрировать влияние на состав микробного сообщества, переваримость питательных веществ рациона и ферментативные процессы в рубце [2].

Жиры добавляют в рационы жвачных животных для повышения энергетической ценности рациона [3].

Добавки растительных жиров также могут быть использованы для коррекции структуры микробного сообщества и управления процессами ферментации в рубце [4]. Специфические микробные группы и их взаимодействие играют ключевую роль в некоторых аспектах животноводства, включая воздействие на окружающую среду [5], мясную и молочную продуктивность [6], эффективность использования кормов [7]. Поэтому использование растительных масел в питании крупного рогатого скота с целью коррекции метаболических процессов представляет большой интерес. Жиры и масла снижают выработку метана в рубце, и включение их в рацион жвачных животных рассматривается как одна из наиболее перспективных стратегий смягчения воздействия парниковых газов [2, 8].

В некоторых исследованиях показано, что отдельные группы бактерий в рубце могут быть вовлечены в процессы биогидрирования, хотя их вклад зависит от источника липидов, поскольку природа двойной связи может отличаться от состава жирных кислот растительных масел [4]. Для снижения воздействия на окружающую среду и улучшения качества продукта обработка кормов (или внесение дополнительных компонентов в рацион) не должна оказывать отрицательное влияние на ключевые виды, участвующие в важнейшей задаче расщепления пищевых волокон [7].

Необходимо учитывать, какое влияние окажет та или иная кормовая добавка на состав микробного сообщества рубца [9]. Баланс видов бактерий также отвечает за поддержание здорового pH рубца. Поэтому очень интересно, может ли добавление масел в рацион питания повлиять на выработку и утилизацию летучих жирных кислот (ЛЖК) и азотистых фракций.

Существует нехватка данных, характеризующих влияние пищевых добавок с маслом на виды бактерий, которые играют важную роль в некоторых аспектах животноводства, описанных ранее.

Очень часто в исследованиях по изучению влияния добавок липидов на переваримость питательных веществ в рубце не рассматривается их влияние на снижение общей переваримости, анаэробную ферментацию, синтез микробного белка, липидный обмен и сдвиги в ключевых видах микробов и структуре сообщества в целом.

Цель исследования — изучение влияния подсолнечного и рапсового масел на ферментацию рубца и таксономический состав микробного сообщества *in vitro*.

Материалы и методы исследований / Materials and methods

Объектом исследования является рубцовое содержимое, полученное от бычков казахской белоголовой породы средней массы 240–255 кг в возрасте 10–11 месяцев с хронической фистулой рубца. В условиях отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина во Всероссийском научно-исследовательском институте мясного скотоводства были сформированы кормовые смеси, в качестве биосубстрата использовали пшеничные отруби, в качестве жировых компонентов — растительные масла (подсолнечное и соевое) в дозировке 3% от СВ рациона.

Обслуживание животных и экспериментальные исследования осуществлялись в соответствии с требованиями инструкций и рекомендаций к выполнению биологических исследований^{1, 2}. При проведении исследований были предприняты меры свести к минимуму страдания животных. Исследования производили методом *in vitro* с помощью инкубатора ANKOM DaisyII (ANKOM Technology, США) (модификация D200 и D200I) по специализированной методике. В качестве дисперсионной среды была выбрана дистиллированная вода. Экспериментальные исследования производили на модели бычков с фистулой рубца ($n = 3$) методом латинского квадрата.

Для исследования были приготовлены: I контрольный (в качестве субстрата — пшеничные отруби) и II и III опытные образцы. В состав опытных образцов входили: II — подсолнечное масло, III — соевое масло в количестве 3% от сухого вещества (СВ) рациона.

В исследованиях использовали нерафинированное подсолнечное масло первичного холодного отжима высшего сорта ТУ 10.41.59-001-95662146-2017 (ООО «Хлебодар», Россия), нерафинированное соевое масло — СТО 40490379-001-2015 (ООО «Планета вкуса», Россия).

Образцы корма взвешивали по 500 мг и насыпали в полиамидные мешочки. Затем мешочки помещались для инкубации при температуре +39,5 °C — 48 часов в смеси буферного раствора с рубцовый жидкостью. По окончании инкубации образцы промывались и высушивались при температуре +60 °C до константного веса.

Коэффициент переваримости сухого вещества *in vitro* вычисляли как разницу масс образца корма с мешочком до и после инкубации по формуле:

$$K = (A - B) / C \times 100\%,$$

где: K — коэффициент переваримости СВ корма (%); A — исходная масса 1 (образец корма с мешочком), мг; B — масса после инкубации (образец корма с мешочком), мг; C — исходная масса 2 (образец корма без массы мешочка), мг.

Лабораторные исследования проводили в Испытательном центре коллективного пользования Федерального научного центра биологических систем и агротехнологий Российской академии наук: уровень летучих жирных кислот (ЛЖК) в содержимом рубца определяли методом газовой хроматографии на хроматографе газовом «Кристаллюкс-4000М» (СКБ «Хроматек», Россия), определение форм азота — по ГОСТ 26180-84³, ГОСТ 13496.4-2019⁴.

¹ Сарымсакова Б.Е., Розенсон Р.И., Баттакова Ж.Е. Руководство по этике научных исследований: методические рекомендации. Астана. 2007; 98.

² Веселова Т.А., Мальцева А.А., Швец И.М. Биоэтические проблемы в биологических и экологических исследованиях: учебно-методическое пособие в электронном виде. Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет. 2018; 18.

³ ГОСТ 26180-84 Корма. Методы определения аммиачного азота и активной кислотности (pH).

⁴ ГОСТ 13496.4-2019 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина.

Микробное биоразнообразие содержимого рубца проводили с помощью MiSeq (Illumina, США) методом секвенирования нового поколения (NGS) с набором реагентов MiSeq® Reagent Kit v3 (600 cycle) в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Персистенция микроорганизмов» (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН).

При выделении ДНК отобранные пробы содержимого инкубировали при +37 °С в течение 30 минут в 300 мкл стерильного буфера для лизиса (20 mM EDTA, 1400 mM NaCl, 100 mM Tris-HCl, pH 7,5; 50 мкл раствора лизоцима в концентрации 100 мг/мл). К смеси добавляли 10 мкл протеиназы K (Thermo Fisher Scientific, Inc., США) в концентрации 10 мг/мл и SDS до конечной концентрации 1,0% и инкубировали в течение 30 минут при +60 °С. ДНК очищали смесью фенола и хлороформа (1:1), осаждали добавлением ацетата натрия (3 М до 10% по объему) и трех объемов абсолютного этанола при +20 °С в течение 4 часов. После экстракции смесью фенол-хлороформ-изоамиловый спирт (25:24:1) и хлороформ-изоамиловый спирт (24:1) ДНК в водной фазе осаждали 1 М ацетатом аммония (до 10% по объему) и трехкратным объемом безводного этанола в течение 12 часов при +20 °С. Осадок ДНК отделяли центрифугированием (12 000 об/мин, 10 мин.), дважды промывали 80%-ным этанолом, сушили и растворяли в ТЕ-буфере (1 М Tris-HCl, pH 8,0 — 1 мл, 0,5 М EDTA, pH 8,0 — 200 мкл, H₂O — до 100 мл; «Евроген», Россия). Чистоту экстракции оценивали по отрицательному контролю выделения (100 мкл автоклавируемой деионизированной воды). Чистоту полученных препаратов ДНК проверяли электрофорезом в 1,5%-ном агарозном геле с фотометрией (NanoDrop 8000, Thermo Fisher Scientific, Inc., США). Концентрацию ДНК измеряли флуориметрическим методом (прибор Qubit 2.0 с высокой чувствительностью определения dsDNA, Life Technologies, США).

ДНК-библиотеки для секвенирования были созданы по протоколу Illumina, Inc. (США) с праймерами S-D-Bact-0341-b-S-17 и S-D-Bact-0785-a-A-21 к варибельному участку V3-V4 гена 16S рНК. NGS-секвенирование выполняли на платформе MiSeq (Illumina, Inc., США) с набором реагентов MiSeq Reagent Kit V3 PE600 (Illumina, Inc., США). Классификацию полученных операционных таксономических единиц (OTE) проводили с использованием интерактивного инструмента VAMPS и базы данных RDP⁵. Некоторые OTE выравнивали с помощью алгоритма BLAST⁶, используя базы данных нуклеотидных последовательностей nr/nt⁷ и выровненных последовательностей генов рибосомальной РНК SILVA⁸.

Для биоинформатической обработки результатов использовалась программа PEAR⁹.

Результаты секвенирования обрабатывали с использованием пакета анализа данных Microsoft Excel 10, программного обеспечения Microsoft Office (США).

Статистическая обработка. Численные данные были обработаны с помощью программы SPSS Statistics 20 (IBM, США), рассчитывали средние (М), среднеквадратичные отклонения ($\pm\sigma$), ошибки стандартного отклонения ($\pm SE$).

Таблица 1. Жирнокислотный состав растительных масел, %
Table 1. Fatty acid composition of vegetable oils, %

Условное обозначение жирной кислоты	Наименование жирной кислоты	Содержание, %	
		подсолнечное масло	соевое масло
C ₁₄	Миристиновая	–	–
C _{16:0}	Пальмитиновая	6,3	10,6
C _{16:1}	Пальмитолеиновая	–	–
C _{18:0}	Стеариновая	4,0	4,6
C _{18:1}	Олеиновая	18,8	24,3
C _{18:2}	Линолевая	70,8	52,5
C _{18:3}	Линоленовая	0,1	7,3
C _{22:0}	Бегеновая	–	0,4
C _{22:1}	Эруковая	–	0,2
C _{22:2}	Арахидовая	–	–

Примечание: «–» — не обнаружено

Для сравнения вариантов использовали непараметрический метод анализа. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$, $p \leq 0,001$.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

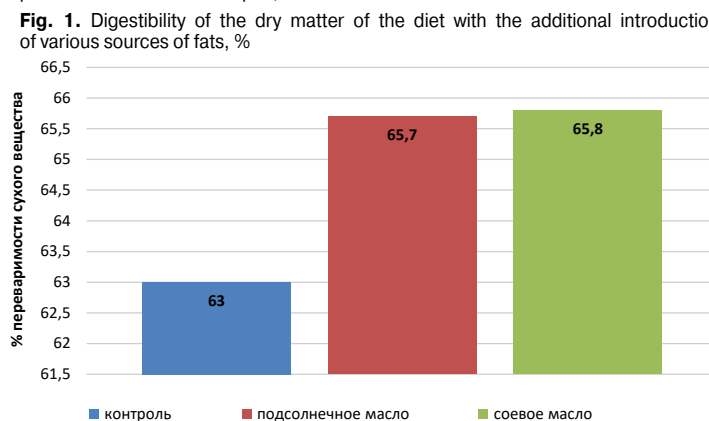
При изучении жирнокислотного состава масел установлено, что различия были незначительны (табл. 1).

Переваримость СВ контрольного рациона (пшеничные отруби) составила 63%. Включение подсолнечного и соевого масел повышало переваримость СВ относительно контроля на 2,7% и 2,8% соответственно (рис. 1).

В рубцовой жидкости конечным продуктом сбраживания углеводов являются ЛЖК. При высокой интенсивности бродильных процессов в рубце больший процент поступающих углеводов подвергается расщеплению, что приводит к количественному увеличению микробиоты рубца и, следовательно, к повышению концентрации ЛЖК. В ходе исследований *in vitro* установлено, что уровень ЛЖК в образцах при введении жиров был различным (рис. 2). В контрольной группе был отмечен достаточно низкий уровень ЛЖК, за исключением капроновой кислоты, однако ее уровень был ниже, чем в опытных группах.

Дополнительное включение масел показало повышение уровня уксусной кислоты: в группе с использованием подсолнечного масла — на 46,8%, в группе с соевым маслом — на 51,5% относительно контроля. Уровень

Рис. 1. Переваримость сухого вещества рациона при дополнительном введении различных источников жиров, %
Fig. 1. Digestibility of the dry matter of the diet with the additional introduction of various sources of fats, %



⁵ <https://vamps.mbl.edu>

⁶ https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome

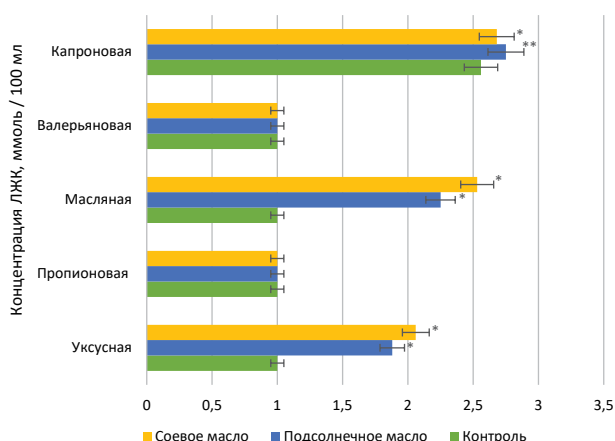
⁷ National Center for Biotechnological Information, NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

⁸ <https://www.arb-silva.de>

⁹ Pair-End Assembler, PEAR v0.9.8. Zhang J., Kobert K., Flouri T., Stamatakis A. PEAR: A fast and accurate Illumina Paired-End reAd merger. Bioinformatics. 2014; 30(5): 614–620.

Рис. 2. Концентрация летучих жирных кислот в рубцовой жидкости при дополнительном включении жиров и УДЧ, мм / 100 мл

Fig. 2. Concentration of volatile fatty acids in the scar fluid with additional inclusion of fats and UDP, mmol / 100 ml



Примечание: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$

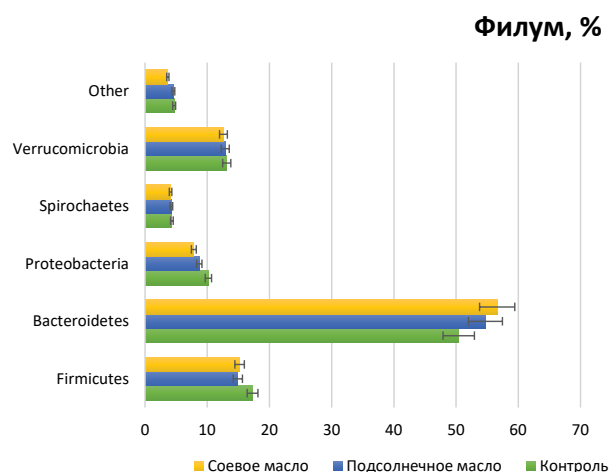
масляной кислоты был также выше относительно контроля на 55,6% и 60,5%, соответственно, в I и II группах. В данных группах концентрация пропионовой и валерьяновой кислот была на одном уровне с контрольными значениями, при этом уровень капроновой кислоты (также в сравнении с контролем) значительно не изменялся.

Содержание азотистых компонентов рубцовой жидкости (РЖ) является одним из показателей степени усвояемости азота корма, а также общей направленности процессов рубцового пищеварения. Отмечено, что уровень общего белка при дополнительном введении жировых компонентов значительно снижался (табл. 2): при введении подсолнечного масла — на 22,8%, соевого масла — на 25,2%. Между концентрацией общего и белкового азота выявлена прямая взаимосвязь. Белковый азот был ниже на 9,3% в I образце, на 12% во II образце (относительно контрольных значений). Концентрация небелкового азота в опытных группах была выше относительно контроля: на 5,4% — при использовании подсолнечного масла, на 7,8% — соевого масла. Уровень аммиачного и мочевиного азота в контрольной и опытной группах отличался незначительно.

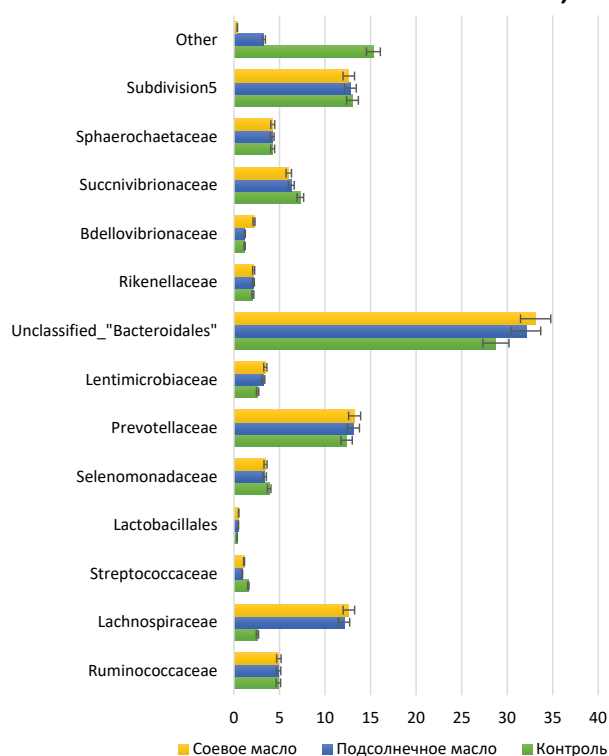
Дополнительное включение подсолнечного масла в рацион показало изменение численности микроорганизмов в РЖ, но качественный состав микробиоты относительно контрольной группы изменялся незначительно. Метагеномное секвенирование РЖ контрольной группы показало наличие 12 филумов, из них 4 — доминирующих, в частности филум *Firmicutes* (17,28%), *Bacteroidetes* (50,42%), *Verrucomicrobia* (13,13%),

Рис. 3. Таксономический состав микробиома рубцовой жидкости *in vitro* при дополнительном введении растительных масел, %

Fig. 3. Taxonomic composition of the microbiome of scar fluid *in vitro* with additional administration of vegetable oils, %



Семейство, %



Proteobacteria (10,18%). При включении подсолнечного масла отмечено снижение численности: *Firmicutes* — на 13,7%, *Verrucomicrobia* — на 2,7%, *Proteobacteria* — на 14,4%. Включение соевого масла увеличивало численность *Firmicutes* (на 12%), *Verrucomicrobia* (на 4%), *Proteobacteria* (на 23%), *Spirochaetes* (на 4,9%) относительно контрольных значений. Установлено, что при введении в рацион животным дополнительных компонентов численность *Bacteroidetes*, напротив, была выше на 7,8% при использовании подсолнечного жира и на 10,9% при использовании соевого масла (рис. 3).

В присутствии подсолнечного масла отмечено увеличение численности представителей семейства *Prevotellaceae* на 5,7% относительно контроля, однако никакого прогностического признака выявлено не было.

Добавление 3% растительных масел (независимо от источника) вызывало незначительное снижение числа

Таблица 2. Содержание азотистых фракций в рубцовой жидкости при дополнительном включении жиров, мг/%
Table 2. The content of nitrogenous fractions in the scar fluid with additional inclusion of fats, mg/%

№/п	Формы азота, мг/%				
	общий	небелко- вый	амми- ачный	моче- винный	белковый
Контроль	91,2 ± 1,6	21,2 ± 1,2	4,1 ± 0,8	5,14 ± 1,4*	70,8 ± 1,8*
Подсолнеч- ное масло	70,4 ± 1,01*	22,4 ± 1,1	3,8 ± 0,7	6,2 ± 1,2**	64,2 ± 1,1*
Соевое масло	68,2 ± 1,12*	23,0 ± 1,2*	3,6 ± 0,6	5,8 ± 0,9	62,3 ± 1,1*

Примечание: * $p \leq 0,05$

копий общих бактерий по сравнению с контролем. В ряде исследований *in vivo* сообщалось об ингибирующем действии масел на рубцовые бактерии [10] и чистые культуры *in vitro* [7], хотя в этих случаях более высокая доза, возможно, способствовала большему эффекту. Общее бактериальное разнообразие и обилие согласуются с результатами ферментации рубца. Переваримость СВ в рубце и общая продукция ЛЖК были увеличены добавлением масел в рацион. Добавление жира в рацион жвачных животных ранее было связано со снижением переваримости корма [11]. Этот эффект был объяснен изменениями в микробных сообществах, снижением ферментативной активности или ограничением доступа микробов и ферментов к частицам корма из-за физического покрытия [12].

В исследовании бактериальные группы, участвующие в переваривании рациона, существенно не модифицировались. Представители семейства *Ruminococcaceae* показали небольшое увеличение числа копий: на 0,4% — при включении подсолнечного масла, на 1% — при включении соевого масла ($p \leq 0,05$). Следовательно, добавление масел в дозах, использованных и в данном эксперименте, оказывало позитивное влияние на переваримость СВ в рубце [9]. Количество и источник добавленного липида [13] могут объяснить несоответствие эффектов добавления масла на численность бактерий и переваримость в рубце, наблюдаемых в данном исследовании, с другими, описанными в литературе. Однако некоторые исследования показали, что включение масел в дозировке 2% не изменяло переваримость органических веществ в рубце жвачных [14]. Работы некоторых авторов [15] показали, что включение жиров в рацион молочных коров не влияли на пищеварительный тракт в целом и переваримость СВ в рубце. Патра (2014) пришел к выводу, что усвояемость клетчатки отрицательно сказывается только при добавлении жира в рацион жвачных в высоких концентрациях [16]. Также в согласии с данным исследованием отмечено увеличение концентрации ЛЖК в рубцовой жидкости при использовании в рационе различных источников масла [17].

В целом, всесторонне рассматривая все данные, было бы разумно предположить, что влияние добавок масла на переваримость кормов не имеет большого биологического значения. Количество копий *Succinivibrionaceae* на примере группы протеобактерий рубца было снижено. Однако было несколько исключений, когда представители *Prevotellaceae* и *Lachnospiraceae*, по-видимому, получали выгоду от добавления масла. Эти универсальные в питательном отношении группы, возможно, смогли расширить свою нишу в результате общего сокращения численности других видов.

Группы бактерий *Butyrivibrio* включают виды, которые связаны с биогидрированием ненасыщенных жирных кислот [18]. В исследованиях *in vivo* численность *Butyrivibrio* после добавления растительных масел [19] незначительно снижалась, что согласуется с нашим исследованием, при добавлении подсолнечного масла численность данного представителя снижалась на 54,5% при добавлении соевого масла на 27,3% ($p \leq 0,05$). Очевидно, что существуют значительные различия между животными в реакции микробов рубца на пищевое масло [20].

Количество копий *Streptococcus bovis* было значительно снижено при добавлении растительных масел. Являясь известным продуцентом лактата, *S. bovis* ассоциируется с ацидозом у жвачных животных домашнего скота часто в ответ на кормление высококонцентрированными рационами [21]. Уменьшая размножение этой микробной группы с добавлением в рацион масел, можно исправить такое состояние. Введение подсолнечного масла снижало численность представителей данного рода на 42,7% ($p \leq 0,05$), соевого масла — на 44,4% ($p \leq 0,05$).

Влияние добавок масла на профиль летучих жирных кислот в рубцовом содержимом зависит от типа и количества добавляемого масла, а также от диеты, в которую оно включено [22]. Добавление растительных масел в соответствующей дозе теоретически может способствовать производству более здоровых продуктов при условии, что это не сопровождается общим снижением синтеза жира [5].

Выводы / Conclusion

В исследованиях *in vitro* было показано, что существует реальный потенциал для корректирования метаболических процессов и структуры бактериального сообщества в рубце путем добавления растительных масел. Равновесие различных групп микробного сообщества может, в свою очередь, способствовать ряду важных аспектов животноводства, описанных ранее. Влияние растительных масел на микробное сообщество было отражено в активности производства ЛЖК и различных форм азота со значительным сдвигом в сторону производства ацетата и бутирата и повышения концентрации небелкового азота. Кроме того, отмечено увеличение переваримости СВ рациона на 2,7–2,8% при включении растительных масел. Увеличение численности в РЖ представителей филума *Bacteroidetes* в опытных группах относительно контроля на 7,8–10,9%, являющихся нормофлорой рубца жвачных и участвующих в синтезе уксусной кислоты, способствовало повышению уровня уксусной и масляной кислот в группе с использованием подсолнечного масла на 46,8% и 55,6% соответственно, в группе с соевым маслом — на 51,5% и 60,5% относительно контроля.

Все авторы несут ответственность за свою работу и представленные данные.

Все авторы внесли равный вклад в эту научную работу. Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors have made an equal contribution to this scientific work. The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism. The authors declare no conflict of interest.

ФИНАНСИРОВАНИЕ:

Работа выполнена в соответствии с планом НИР за 2021–2023 гг. Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН (№ 0761-2019-0005)

FUNDING:

The work was carried out in accordance with the research plan for 2021-2023. Federal Scientific Center of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences (No. 0761-2019-0005)

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Morgavi D.P., Forano E., Martin C., Newbold C.J. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*. 2010; 4(7): 1024–1036. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000546>
2. Gerber P.J., Henderson B., Makkar H.P.S. (eds.). Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production — A review of technical options for non-CO₂ emissions. FAO Animal Production and Health Paper No. 177. Rome: FAO. 2013; xvi + 206. ISBN: 978-92-5-107658-3
3. Vargas-Bello-Pérez E., Cancino-Padilla N., Romero J., Garnsworthy P.C. Quantitative analysis of ruminal bacterial populations involved in lipid metabolism in dairy cows fed different vegetable oils. *Animal*. 2016; 10(11): 1821–1828. <https://doi.org/10.1017/S1751731116000756>
4. Huws S.A., Lee M.R.F., Muetzel S.M., Scott M.B., Wallace R.J., Scollan N.D. Forage type and fish oil cause shifts in rumen bacterial diversity. *FEMS Microbiology Ecology*. 2010; 73(2): 396–407. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00892.x>
5. Shingfield K.J., Reynolds C.K., Hervás G., Grinari J.M., Grandison A.S., Beever D.E. Examination of the Persistency of Milk Fatty Acid Composition Responses to Fish Oil and Sunflower Oil in the Diet of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 2006; 89(2): 714–732. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72134-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72134-8)
6. Shingfield K.J., Bonnet M., Scollan N.D. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal*. 2013; 7(S1): 132–162. <https://doi.org/10.1017/S1751731112001681>
7. Myer P.R., Smith T.P.L., Wells J.E., Kuehn L.A., Freely H.C. Rumen Microbiome from Steers Differing in Feed Efficiency. *PLoS ONE*. 2015; 10(6): e0129174. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129174>
8. Bodas R., Prieto N., García-González R., Andrés S., Giraldez F.J., López S. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*. 2012; 176(1–4): 78–93. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2012.07.010>
9. Denman S.E., McSweeney C.S. Development of a real-time PCR assay for monitoring anaerobic fungal and cellulolytic bacterial populations within the rumen. *FEMS Microbiology Ecology*. 2006; 58(3): 572–582. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00190.x>
10. Vargas J.E., Andrés S., Snelling T.J., López-Ferreras L., Yáñez-Ruiz D.R., García-Estrada C., López S. Effect of Sunflower and Marine Oils on Ruminant Microbiota, *In vitro* Fermentation and Digesta Fatty Acid Profile. *Frontiers in Microbiology*. 2017; 8: 1124. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01124>
11. Palmquist D.L., Jenkins T.C. Fat in lactation rations: review. *Journal of Dairy Science*. 1980; 63(1): 1–14. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82881-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82881-5)
12. Nagaraja T.G., Newbold C.J., van Nevel C.J., Demeyer D.I. Manipulation of ruminal fermentation. Hobson P.N., Stewart C.S. (eds.). The Rumen Microbial Ecosystem. Dordrecht: Springer. 1997; 523–632. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7_13
13. Jenkins T.C. Lipid metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*. 1993; 76(12): 3851–3863. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77727-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77727-9)
14. Doreau M., Arousseau E., Martin C. Effects of linseed lipids fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on organic matter and crude protein digestion in cows. *Animal Feed Science and Technology*. 2009; 150(3–4): 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2008.09.004>
15. Weld K.A., Armentano L.E. The effects of adding fat to diets of lactating dairy cows on total-tract neutral detergent fiber digestibility: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*. 2017; 100(3): 1766–1779. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11500>
16. Patra A.K. A meta-analysis of the effect of dietary fat on enteric methane production, digestibility and rumen fermentation in sheep, and a comparison of these responses between cattle and sheep. *Livestock Science*. 2014; 162: 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.01.007>
17. Gao J., Wang M.Z., Jing Y.J., Sun X.Z., Wu T.Y., Shi L.F. Impacts of the unsaturation degree of long-chain fatty acids on the volatile fatty acid profiles of rumen microbial fermentation in goats *in vitro*. *Journal of Integrative Agriculture*. 2016; 15(12): 2827–2833. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(16\)61418-1](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(16)61418-1)
18. Рязанов В.А., Шейда Е.В., Дускаев Г.К., Рахматуллин Ш.Г., Кван О.В. Оценка воздействия фитобактериальных препаратов *Salviae folia*, *Scutellaria baicalensis*, *Origanum vulgare* на обменные процессы в модели рубца. *Аграрная наука*. 2022; (7–8): 86–92. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-86-92>
19. Kim E.J. et al. Fish Oil Increases the Duodenal Flow of Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids and trans-11 18:1 and Decreases 18:0 in Steers via Changes in the Rumen Bacterial Community. *The Journal of Nutrition*. 2008; 138(5): 889–896. <https://doi.org/10.1093/jn/138.5.889>
20. Belenguer A., Toral P.G., Frutos P., Hervás G. Changes in the rumen bacterial community in response to sunflower oil and fish oil supplements in the diet of dairy sheep. *Journal of Dairy Science*. 2010; 93(7): 3275–3286. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3101>
21. Шейда Е.В. Изучение влияния различных добавок на ферментативные процессы в рубце и таксономический состав микробиома. *Аграрный вестник Урала*. 2022; (3): 72–82. <https://www.elibrary.ru/ngcbpt>
22. Shingfield K.J. et al. Dietary Fish Oil Supplements Modify Ruminal Biohydrogenation, Alter the Flow of Fatty Acids at the Omasum, and Induce Changes in the Ruminal Butyriivibrio Population in Lactating Cows. *The Journal of Nutrition*. 2012; 142(8): 1437–1448. <https://doi.org/10.3945/jn.112.158576>

REFERENCES

1. Morgavi D.P., Forano E., Martin C., Newbold C.J. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*. 2010; 4(7): 1024–1036. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000546>
2. Gerber P.J., Henderson B., Makkar H.P.S. (eds.). Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production — A review of technical options for non-CO₂ emissions. FAO Animal Production and Health Paper No. 177. Rome: FAO. 2013; xvi + 206. ISBN: 978-92-5-107658-3
3. Vargas-Bello-Pérez E., Cancino-Padilla N., Romero J., Garnsworthy P.C. Quantitative analysis of ruminal bacterial populations involved in lipid metabolism in dairy cows fed different vegetable oils. *Animal*. 2016; 10(11): 1821–1828. <https://doi.org/10.1017/S1751731116000756>
4. Huws S.A., Lee M.R.F., Muetzel S.M., Scott M.B., Wallace R.J., Scollan N.D. Forage type and fish oil cause shifts in rumen bacterial diversity. *FEMS Microbiology Ecology*. 2010; 73(2): 396–407. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00892.x>
5. Shingfield K.J., Reynolds C.K., Hervás G., Grinari J.M., Grandison A.S., Beever D.E. Examination of the Persistency of Milk Fatty Acid Composition Responses to Fish Oil and Sunflower Oil in the Diet of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 2006; 89(2): 714–732. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72134-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72134-8)
6. Shingfield K.J., Bonnet M., Scollan N.D. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal*. 2013; 7(S1): 132–162. <https://doi.org/10.1017/S1751731112001681>
7. Myer P.R., Smith T.P.L., Wells J.E., Kuehn L.A., Freely H.C. Rumen Microbiome from Steers Differing in Feed Efficiency. *PLoS ONE*. 2015; 10(6): e0129174. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129174>
8. Bodas R., Prieto N., García-González R., Andrés S., Giraldez F.J., López S. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*. 2012; 176(1–4): 78–93. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2012.07.010>
9. Denman S.E., McSweeney C.S. Development of a real-time PCR assay for monitoring anaerobic fungal and cellulolytic bacterial populations within the rumen. *FEMS Microbiology Ecology*. 2006; 58(3): 572–582. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00190.x>
10. Vargas J.E., Andrés S., Snelling T.J., López-Ferreras L., Yáñez-Ruiz D.R., García-Estrada C., López S. Effect of Sunflower and Marine Oils on Ruminant Microbiota, *In vitro* Fermentation and Digesta Fatty Acid Profile. *Frontiers in Microbiology*. 2017; 8: 1124. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01124>
11. Palmquist D.L., Jenkins T.C. Fat in Lactation Rations: Review. *Journal of Dairy Science*. 1980; 63(1): 1–14. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82881-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82881-5)
12. Nagaraja T.G., Newbold C.J., van Nevel C.J., Demeyer D.I. Manipulation of ruminal fermentation. Hobson P.N., Stewart C.S. (eds.). The Rumen Microbial Ecosystem. Dordrecht: Springer. 1997; 523–632. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7_13
13. Jenkins T.C. Lipid Metabolism in the Rumen. *Journal of Dairy Science*. 1993; 76(12): 3851–3863. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77727-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77727-9)
14. Doreau M., Arousseau E., Martin C. Effects of linseed lipids fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on organic matter and crude protein digestion in cows. *Animal Feed Science and Technology*. 2009; 150(3–4): 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2008.09.004>
15. Weld K.A., Armentano L.E. The effects of adding fat to diets of lactating dairy cows on total-tract neutral detergent fiber digestibility: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*. 2017; 100(3): 1766–1779. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11500>
16. Patra A.K. A meta-analysis of the effect of dietary fat on enteric methane production, digestibility and rumen fermentation in sheep, and a comparison of these responses between cattle and sheep. *Livestock Science*. 2014; 162: 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.01.007>
17. Gao J., Wang M.Z., Jing Y.J., Sun X.Z., Wu T.Y., Shi L.F. Impacts of the unsaturation degree of long-chain fatty acids on the volatile fatty acid profiles of rumen microbial fermentation in goats *in vitro*. *Journal of Integrative Agriculture*. 2016; 15(12): 2827–2833. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(16\)61418-1](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(16)61418-1)
18. Ryazanov V.A., Sheida E.V., Duskaev G.K., Rakhmatullin S.G., Kvan O.V. Assessment of the effect of phytobiotic drugs *Salviae folia*, *Scutellaria baicalensis*, *Origanum vulgare* on metabolic processes in the rumen model. *Agrarian science*. 2022; (7–8): 86–92 (In Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-86-92>
19. Kim E.J. et al. Fish Oil Increases the Duodenal Flow of Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids and trans-11 18:1 and Decreases 18:0 in Steers via Changes in the Rumen Bacterial Community. *The Journal of Nutrition*. 2008; 138(5): 889–896. <https://doi.org/10.1093/jn/138.5.889>
20. Belenguer A., Toral P.G., Frutos P., Hervás G. Changes in the rumen bacterial community in response to sunflower oil and fish oil supplements in the diet of dairy sheep. *Journal of Dairy Science*. 2010; 93(7): 3275–3286. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3101>
21. Sheyda E.V. Study of the effect of various additives on enzymatic processes in the rumen and the taxonomic composition of the microbiome. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2022; (3): 72–82 (In Russian). <https://www.elibrary.ru/ngcbpt>
22. Shingfield K.J. et al. Dietary Fish Oil Supplements Modify Ruminal Biohydrogenation, Alter the Flow of Fatty Acids at the Omasum, and Induce Changes in the Ruminal Butyriivibrio Population in Lactating Cows. *The Journal of Nutrition*. 2012; 142(8): 1437–1448. <https://doi.org/10.3945/jn.112.158576>

ОБ АВТОРАХ:

Елена Владимировна Шейда,
кандидат биологических наук, научный сотрудник
лаборатории биологических испытаний и экспертиз,
Федеральный научный центр биологических систем
и агротехнологий Российской академии наук,
ул. 9 Января, 2, Оренбург, 460000, Россия
Тел. +7 (922) 862-64-02
<https://orcid.org/0000-0002-2586-613X>
elena-shaejjda@mail.ru

Виталий Александрович Рязанов,
кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник
отдела кормления сельскохозяйственных животных
и технологии кормов им. С.Г. Леушина,
Федеральный научный центр биологических систем
и агротехнологий Российской академии наук,
ул. 9 Января, 2, Оренбург, 460000, Россия
Тел. +7 (3532) 43-46-79
<https://orcid.org/0000-0003-0903-9561>
vita7456@yandex.ru

Галимжан Калиханович Дускаев,
доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник
отдела кормления сельскохозяйственных животных
и технологии кормов им. С.Г. Леушина,
Федеральный научный центр биологических систем
и агротехнологий Российской академии наук,
ул. 9 Января, 2, Оренбург, 460000, Россия
Тел. +7 (3532) 30-81-70
<https://orcid.org/0000-0002-9015-8367>
gduskaev@mail.ru

Шамиль Гафиуллович Рахматуллин,
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
отдела кормления сельскохозяйственных животных
и технологии кормов им. С.Г. Леушина,
Федеральный научный центр биологических систем
и агротехнологий Российской академии наук,
ул. 9 Января, 2, Оренбург, 460000, Россия
Тел. +7 (922) 815-72-25
<https://orcid.org/0000-0003-0143-9499>
shahm2005@rambler.ru

Ольга Вилориевна Кван,
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
отдела кормления сельскохозяйственных животных
и технологии кормов им. С.Г. Леушина,
Федеральный научный центр биологических систем
и агротехнологий Российской академии наук,
ул. 9 Января, 2, Оренбург, 460000, Россия
Тел. +7 (922) 548-56-57
<https://orcid.org/0000-0003-0561-7002>
kwan111@yandex.ru

ABOUT THE AUTHORS:

Elena Vladimirovna Sheida,
Candidate of Biological Sciences, Researcher at the Laboratory
of Biological Tests and Examinations,
Federal Scientific Center of Biological Systems and
Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences,
2 January 9th str., Orenburg, 460000, Russia
Tel. +7 (922) 862-64-02
<https://orcid.org/0000-0002-2586-613X>
elena-shejjda@mail.ru

Vitaly Aleksandrovich Ryazanov,
Candidate of Agricultural Sciences, Researcher of the Department
of Animal Feeding and Feed Technology named after S.G. Leushin,
Federal Scientific Center for Biological Systems and
Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences,
2 January 9th str., Orenburg, 460000, Russia
Tel. +7 (3532) 43-46-79
<https://orcid.org/0000-0003-0903-9561>
vita7456@yandex.ru

Galimzhan Kalihanovich Duskaev,
Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher of the
Department of Farm Animal Feeding and Feed Technology named
after S.G. Leushin,
Federal Scientific Center of Biological Systems and
Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences,
2 January 9th str., Orenburg, 460000, Russia
Tel. +7 (3532) 30-81-70
<https://orcid.org/0000-0002-9015-8367>
gduskaev@mail.ru

Shamil Gafullovich Rakhmatullin,
Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the S.G.
Leushin Department of Animal Feeding and Feed Technology,
Federal Scientific Center for Biological Systems and
Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences,
2 January 9th str., Orenburg, 460000, Russia
Tel.: +7 (922) 815-72-25
<https://orcid.org/0000-0003-0143-9499>
shahm2005@rambler.ru

Olga Vilorievna Kvan,
Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the
S.G. Leushin Department of Animal Feeding and Feed
Technology, Federal Scientific Center for Biological Systems and
Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences,
2 January 9th str., Orenburg, 460000, Russia
Tel. +7 (922) 548-56-57
<https://orcid.org/0000-0003-0561-7002>
kwan111@yandex.ru